

XP-002164167

AN - 1999-229816 [20]

AP - BR19970004313 19970708

CPY - ALVE-I

- MATT-I

- KANA-I

- MEND-I

- PASC-I

- STRA-I

DC - B04 C06 D16 P32

FS - CPI;GMPI

IC - A61D19/02 ; C07K14/465 ; C07K16/02 ; C12N15/13

IN - DE RESENDE MATTA M F

MC - B04-F03 C04-F03 B04-G01 C04-G01 B04-G21 C04-G21 B11-C07A C11-C07A  
B12-K04 C12-K04 B14-S12 C14-S12 D05-H09 D05-H11A

PA - (ALVE-I) ALVES E W

- (MATT-I) DE RESENDE MATTA M F

- (KANA-I) KANASHIRO M M

- (MEND-I) MENDES D C G

- (PASC-I) PASCARELLI S C J

- (STRA-I) STRAGGIOTTI S J F

PN - BR9704313 A 19990406 DW199920 C07K14/465 000pp

PR - BR19970004313 19970708

XA - C1999-067701

XIC - A61D-019/02 ; C07K-014/465 ; C07K-016/02 ; C12N-015/13

AB - BR9704313 Method for immunosorting of bovine spermatozooids using IgY  
from hens eggs comprises the use of monoclonal antibodies which  
identify the specific antigens, associated with IgY produced in the  
yolk of hens eggs.

- Recently collected bovine semen is contacted with the monoclonal  
antibody specific for the antigen responsible for the sexual  
characteristic, then contacted with IgY from hens egg immunised  
against mouse antibody.

- USE - The sex of calves can be determined before fertilisation.

- ADVANTAGE - The technique, which is simple and may be carried out in  
the field, is an efficient means of immunosorting.

- Non-agglutinated spermatozooids are used for artificial insemination or  
freezing.

- (Dwg.0/0)

IW - BOVINE SPERMATOZOID HEN EGG

IKW - BOVINE SPERMATOZOID HEN EGG

INW - DE RESENDE MATTA M F

NC - 001

OPD - 1997-07-08

ORD - 1999-04-06

PAW - (ALVE-I) ALVES E W

- (MATT-I) DE RESENDE MATTA M F

- (KANA-I) KANASHIRO M M

- (MEND-I) MENDES D C G

- (PASC-I) PASCARELLI S C J

- (STRA-I) STRAGGIOTTI S J F

TI - Immunosorting of bovine spermatozooids - using IgY from hens eggs



⑬ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ Patentschrift  
⑩ DE 195 49 015 C 1

⑤ Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**G 01 N 21/85**  
G 05 D 3/12  
C 12 Q 1/00  
G 01 B 11/00  
G 08 T 7/00

②① Aktenzeichen: 195 49 015.0-52  
②② Anmeldetag: 28. 12. 95  
②③ Offenlegungstag: —  
②④ Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: 3. 4. 97

DE 195 49 015 C 1

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑦③ Patentinhaber:

GSF - Forschungszentrum für Umwelt und  
Gesundheit GmbH, 85764 Oberschleißheim, DE;  
Siemens AG, 80333 München, DE

⑦④ Vertreter:

Fuchs, F., Dr.-Ing., Pat.-Anw., 81541 München

⑦② Erfinder:

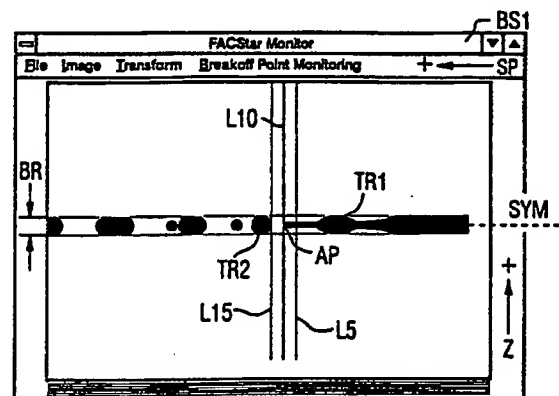
Eliwart, Joachim, Dr.rer.biol.hum., 80798 München,  
DE; Karls, Ingolf, Dr.-Ing., 85622 Feldkirchen, DE

⑤⑥ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit  
in Betracht gezogene Druckschriften:

DE 44 28 490 A1  
DE 37 05 876 A1  
DE 27 09 698 A1  
GB 15 89 627

⑤④ Verfahren und Anordnung zur Überwachung eines abreißenden Flüssigkeitstrahls

⑤⑦ Mit der Erfindung wird ein Verfahren und eine Anordnung angegeben, durch die abreißende Flüssigkeitstrahlen, wie sie beispielsweise in Zellsortern auftreten, automatisch überwacht werden können. Hierzu wird ein Bild der abreißenden Flüssigkeitstrahlen aufgenommen und die Position eines Abrißpunktes, an welchem sich die Tropfen von einer Flüssigkeitssäule ablösen, durch bildanalytische Methoden gefunden. Es werden verschiedene Lösungsmöglichkeiten angegeben, um die Bildinformation zur leichteren Verarbeitbarkeit geeignet aufzubereiten.



DE 195 49 015 C 1

Bei Vorgängen in der Chemie, Biologie und Medizin spielen häufig abreißende Flüssigkeitsstrahlen eine große Rolle. Oft werden dort bei Analysen und hochgenauen Trenn- und Dosiervorgängen hochverdünnte Lösungen mittels Düsen, Pipetten oder anderen Gerätschaften fein dosiert. Auch beim Sortieren von Partikeln, z. B. Zellen aus Lebewesen, mit Hilfe von Zell-Sortern, spielen abreißende Flüssigkeitsstrahlen eine große Rolle, was in "Herzenberg L.A., Sweet R.G. Herzenberg L.A.: Fluorescence-activated Cell Sorting, Sci Amer., 234 (3), März 1976, Seiten 108—117" beschrieben ist.

Aus DE 27 09 698 A1 ist ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Bestimmung von Dichte, Oberflächenspannung und Viskosität von kleinen Flüssigkeitsvolumina bekannt. Dort wird ein kleiner Flüssigkeitstropfen auf einer stehenden Ultraschallwelle in der Nähe eines Druckknotens dieser Welle in Schwebelage gehalten. Die exakte Position des Flüssigkeitstropfens auf der stehenden Welle kann dabei mit Hilfe einer optischen Einrichtung bestimmt werden.

Aus DE 37 05 876 A1 ist ein Verfahren und eine Vorrichtung für Fließcytometrie bekannt. Bei diesem Verfahren wird der Brennpunkt von einer Bildaufnahmeserimpulslichtquelle in einem Fluß fokussiert durch welchen Zellen fließen. Das reflektierte Licht wird von einer Kamera aufgenommen und daraus ein Standbild erzeugt, welches bildanalytisch bearbeitet werden kann.

Aus DE 44 26 490 A1 ist ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Analyse von metallischen Teilen, welche von einer Transporteinheit bewegt werden mit Hilfe von Laserlicht bekannt. Dabei wird von einer Bildaufnahmeeinheit jedes Teil aufgenommen und von einer Auswerteeinheit erkannt, ob das Teil eine metallisch blanke Stelle aufweist, und wenn dies der Fall ist wird ein Laserstrahl auf die metallisch blanke Stelle ausgerichtet.

Aus GB 1 589 627 ist eine Anordnung zur Fließkontrolle von geschmolzenem Stahl bekannt. Bei dieser Anordnung wird mit Hilfe einer Infrarotkamera ein Strahl geschmolzenen Stahls beobachtet. Diese Infrarotkamera schickt ihre Signale an eine Bildauswerteeinheit, welche diese mit vordefinierten Signalen für einen Sollzustand des fließenden Stahles vergleicht. Falls die aufgenommenen Werte von den vordefinierten Werten abweichend, wird ein Verschuß, welcher die Fließgeschwindigkeit des Stahles beeinflußt, betätigt, um den Sollzustand wieder herzustellen.

Vorrichtungen zur Kontrolle eines abreißenden Flüssigkeitsstrahles sind derzeit nicht bekannt. Insbesondere ist dessen Überwachung zum Zwecke der Einhaltung einer konstanten Tropfenfolge personell aufwendig und erfordert hohe Konzentration. Aus diesen Gründen besteht der dringende Wunsch, solche Flüssigkeitsstrahlen bezüglich ihrer äußeren Parameter, d. h. Tropfgeschwindigkeit, Tropfengröße, Tropfenabstand, Lage des Abrißpunkts und ihrer Regelmäßigkeit automatisiert überwachen zu können.

Derzeit sind keine Vorrichtungen und Verfahren bekannt, die eine solche automatische Überwachung gewährleisten.

Die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe besteht deshalb darin, eine Anordnung und ein Verfahren anzugeben, womit ein abreißender Flüssigkeitsstrahl automatisiert überwacht werden kann.

Diese Aufgabe wird für das Verfahren gemäß den Merkmalen des Patentanspruches 1 und für die Vorrich-

tung gemäß den Merkmalen des Patentanspruches 7 gelöst. Weiterbildungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Besonders vorteilhaft wird beim erfindungsgemäßen Verfahren die Position eines Abrißpunkts, bei welchem sich Einzeltropfen von einem Flüssigkeitsstrahl ablösen, überwacht und deren Position mit Hilfe einer Bildanalyse des aufgenommenen Bildes ermittelt, denn diese Position kann gut überwacht werden und eine Überschreitung eines vordefinierten Positionsgrenzwertes führt zu definierten Aktionsbedingungen für das erfindungsgemäße Verfahren.

Besonders vorteilhaft wird beim erfindungsgemäßen Verfahren die Richtung des Flüssigkeitsstrahls im aufgenommenen Bild dadurch ermittelt, daß das Bild zeilen- bzw. spaltenweise analysiert wird. Das erfindungsgemäße Verfahren nutzt dabei vorteilhaft aus, daß ein Flüssigkeitsstrahl im wesentlichen eine Gerade auf dem Bildschirm darstellt, und daß sich durch zeilen- bzw. spaltenhafte Bildanalyse der Farbgebung der einzelnen Pixelwerte die Verlaufsrichtung des Strahls genau herausfinden läßt. Weiterhin nutzt es das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhaft aus, daß der Strahl an einer Bildseite kontinuierlich eintritt und daß hernach, nach Abtrennung der einzelnen Tropfen von dem Abrißpunkt Unterbrechungen im Strahl vorhanden sind, so läßt sich genau die Position des Abrißpunkts detektieren, indem die Farbwerte der einzelnen Pixel entlang der Symmetrieachse des Strahls untersucht werden. Bei der ersten signifikanten Farbänderung ist die Position des Abrißpunkts im Bild gefunden worden und die Koordinaten dieser Pixelwerte repräsentieren im Rechner die Position des Abrißpunkts. Beim Start des erfindungsgemäßen Verfahrens kann der abreißende Flüssigkeitsstrahl genau auf diesen Werten normiert werden und somit der Positionsgrenzwert des Abrißpunkts entsprechend relativ dazu definiert werden.

Besonders vorteilhaft wird beim erfindungsgemäßen Verfahren ein kleines Auswertungsfenster gebildet, welches symmetrisch um den Abrißpunkt herum angeordnet ist, denn so läßt sich der Bildanalyseaufwand wesentlich verringern.

Besonders vorteilhaft wird die Bildinformation des aufgenommenen Momentbildes mittels zweier Farbwerte diskretisiert, welche beispielsweise durch spalten- oder zeilenweise Mittelwertbildung gefunden werden. Dabei werden alle Farbwerte unterhalb des Minimums beispielsweise schwarz und alle Farbwerte oberhalb des Minimums beispielsweise weiß gewählt, so daß auf diese Weise weiterhin der Bildanalyseaufwand reduziert werden kann und damit abreißende Flüssigkeitsstrahlen mit hoher Tropfenfolge überwacht werden können bzw. ein leistungsschwächerer Rechner für die Anwendung des Verfahrens verwendet werden kann.

Ein besonderer Vorteil der erfindungsgemäßen Anordnung besteht darin, daß sie auf die Position des Abrißpunktes abstellt und durch geeignete Auswertemittel sicherstellt, daß der Abrißpunkt nicht über einen einstellbaren Grenzwert hinaus seine Position variieren kann. Sollte dies doch geschehen, so wird vorteilhaft automatisch ein Aktionsmittel in Gang gesetzt.

Besonders vorteilhaft wird bei der erfindungsgemäßen Anordnung die Position des Abrißpunkts mittels einer Kamera überwacht, da sich davon leicht Standbilder anfertigen lassen und so für die Auswertung der Position dem Abrißpunkts mehr Zeit zur Verfügung steht.

Besonders vorteilhaft wird die Auswertung bei der

erfindungsgemäßen Anordnung durch einen Rechner durchgeführt, da dieser Rechner bei Feststellen einer Überschreitung des Grenzwertes durch ein geeignetes Interface praktisch ohne Zeitverzögerung die Aktionsmittel in Gang setzen kann.

Ein entscheidender Vorteil des Verfahrens besteht darin, daß kein Personal durch die Beobachtung gebunden wird.

Besonders vorteilhaft läßt sich die Auswertung des gespeicherten Kamerabildes mit Hilfe der vorhandenen Pixelinformation durchführen, denn bei abreißen Flüssigkeitsstrahlen handelt es sich um geometrisch recht einfache Grundstrukturen, bei denen der Bildinformationsgehalt durch geeignete Maßnahmen auf das Wesentliche reduziert werden kann und damit der Auswerteaufwand durch den Rechner wesentlich vereinfacht werden kann. Besonders vorteilhaft läßt sich hierfür die Pixelstruktur, d. h. der koordinatenartige Aufbau des Bildschirms in Form von Zeilen und Spalten ausnutzen. Besonders einfach läßt sich diese Auswertung durchführen, wenn im Rechner ein Framegrabber vorhanden ist, in welchem das Bild vollständig im Speicher abgelegt wird, so daß auf die Farbinformation einzelner Bildpunkte zu ihrer Verarbeitung separat zugegriffen werden kann.

Besonders vorteilhaft bei der erfindungsmäßigen Anordnung ist, daß im Alarmfall der Vorgang automatisch unterbrochen wird, da ein Mensch nicht so schnell reagieren kann. Bei dem Verfahren der e.g. Art ist es notwendig, ständig den Abrißpunkt über Stunden zu beobachten und gegebenenfalls rasch zu reagieren, wenn sich der Abrißpunkt verschiebt, da sonst der ganze Trennvorgang wiederholt werden muß. Wegen der langen menschlichen Reaktionszeit sind reine Fraktionen im Falle einer Störung praktisch nicht zu erhalten.

Vorteilhaft ist das Verfahren deshalb so ausgestaltet, daß bei Störungen der Sortiervorgang nahezu verzögerungsfrei unterbrochen werden kann.

Vorteilhaft sind bei der erfindungsgemäßen Anordnung Aktionsmittel in Form einer Alarmanrichtung vorgesehen, um Unregelmäßigkeiten in den abreißen Flüssigkeitsstrahlen anzuzeigen.

Besonders vorteilhaft ist als Aktionsmittel bei der erfindungsgemäßen Anordnung ein Nachregulieren der Lage des Abrißpunkts durch einen Aktor vorgesehen, da häufig ein automatisiertes Nachregeln schwieriger ist, als Unterbrechung des Vorgangs, die Auslösung eines Alarms und die Korrektur der äußeren Parameter durch einen Bediener.

Besonders vorteilhaft wird die erfindungsgemäße Anordnung in einem Zell-Sorter eingesetzt, da hier bislang sehr zeitaufwendige Beobachtungen durch einen menschlichen Bediener erforderlich sind um den Trennvorgang zu überwachen.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Figuren weiter erläutert.

Fig. 1 gibt dabei ein Beispiel der Anwendung einer Anordnung in einem Zellsorter an.

Fig. 2 und Fig. 3 zeigen ein Momentanbild eines aufgenommenen abreißen Flüssigkeitsstrahls.

Fig. 4 gibt ein Beispiel für ein Ablaufdiagramm des Verfahrens an.

Fig. 1 zeigt stark schematisiert die Anwendung der Anordnung in einem Zellsorter. Besondere Bestandteile der Anordnung, die zu beachten sind, bestehen in einem freien Flüssigkeitsstrahl FL, aus der sich ein Tropfen TR1 ablöst und der einen Abrißpunkt AP bildet. Der zweite Tropfen TR2 ist der erste Tropfen welcher sich

von dem Abrißpunkt AP abgelöst hat. Dieser Vorgang wird mittels einer Kamera oder einem anderen Detektor VID beobachtet, welche ihre Signale an eine Verarbeitungseinheit über eine Leitung 100 weitergeben. Diese Verarbeitungseinheit, im folgenden als Auswertemittel PC bezeichnet, kann beispielsweise einen Rechner darstellen, oder eine andere Hardware, welche dazu dient, das Signal des Detektors auszuwerten. Es sind noch weitere Tropfen dargestellt die bis zu TRN nummeriert sind.

In einem Zellsorter werden vereinzelte biologische Zellen oder andere Partikel in einer elektrisch leitenden Suspension auf geeignete Weise durch optische oder elektrische Mittel charakterisiert und entsprechend ihrer Eigenschaften voneinander sortiert. Sie befinden sich nach Austritt aus einer Düse aufeinanderfolgend im Flüssigkeitsstrahl FL. Die sich aus dem Flüssigkeitsstrahl FL ablösenden Tropfen werden durch ein elektrisches Feld zwischen den Elektroden EL1 und EL2 geführt, so daß elektrisch geladene Teilchen in ein Probenglas PR abgelenkt werden. Die Tropfen werden beim Abriß vom Flüssigkeitsstrahl FL durch die augenblickliche elektrische Ladung des Flüssigkeitsstrahls FL aufgeladen. Die Ladung des Flüssigkeitsstrahls richtet sich nach den Sortierkriterien, die durch die optischen bzw. elektrischen Eigenschaften der zu sortierenden Partikel festgelegt wurden.

Die Auswertemittel PC sind hier beispielsweise mit einem Bildschirm BS verbunden, auf welchem der Abrißpunkt AP dargestellt ist. In den Auswertemitteln PC, welche beispielsweise ein Personalcomputer sein können wird ausgewertet, inwieweit sich die Abrißkante oder der Abrißpunkt AP verschieben. Hierzu wird zunächst beispielsweise von einem menschlichen Bediener ein korrekter abreißen Flüssigkeitsstrahl eingestellt, der sich im wesentlichen zeitlich und örtlich stabil vom Abrißpunkt AP ablöst. Darauf wird beispielsweise die gesamte Anordnung normiert und ein Sicherheitsabstand als Positionsgrenze für den Abrißpunkt festgelegt. Falls nun während des Ablöseprozesses sich der Abrißpunkt AP verschiebt, so wird dies am Bildschirm dargestellt und bei Überschreiten eines vorher festgelegten Grenzwertes wird über beispielsweise eine Leitung 200 zu einem Interface IF ein Aktionsmittel betätigt. Dieses Aktionsmittel ist beispielsweise ein Lautsprecher LS, ein Funkalarm SEN, oder Magnetventile, die den Flüssigkeitsstrahl FL unterbrechen. Ein weiteres Aktionsmittel kann beispielsweise ein Solenoid SOL sein, welches mittels eines Elektromagneten, der über die Leitungen 300 betätigt wird, das Probenglas PR aus dem Probenstrahl der Richtung EIN entfernt.

Es ist zu beachten, daß die hier gezeigte Version eines Zellsorters nur ein Beispiel für die Anwendung einer der Anordnung darstellt. Die Vorgänge sind stark schematisiert dargestellt und es sind auch durchaus andere Detektoren VID denkbar. Solche Detektoren können beispielsweise Lichtschranken, Ultraschall oder kapazitive Aufnehmer sein. Durch diese Detektionsmittel muß lediglich sichergestellt werden, daß die Position eines Abrißpunkts AP hinreichend genau detektiert werden kann. Bei Zellsortern sind vorzugsweise Kameras zu verwenden, da diese bereits vorgesehen sind, um dem menschlichen Bediener das Beobachten des Abrißpunktes auf einem Bildschirm BS zu ermöglichen. Vorzugsweise wird deshalb in den Auswertemitteln der Bildschirminhalt mittels einer Bildanalyse ausgewertet. Hierzu werden beispielsweise Momentaufnahmen des abreißen Flüssigkeitsstrahls erstellt und gemäß dem

Verfahren durch zeilenweise und spaltenweise Analyse der einzelnen Pixelfarbwerte die Position des Abrißpunkts AP gefunden. Durch geeignete Maßnahmen, wie beispielsweise der Diskretisierung der Pixelfarbwerte in lediglich zwei Werte, welche einer Kontrastverstärkung gleich kommt wird auch der Rechenaufwand innerhalb der Auswertemittel PC vereinfacht. Damit ist es möglich, leistungsschwächere Prozessoren einzusetzen, bzw. eine höhere Tropffrequenz zu beobachten. Je nach gewünschter Auflösung kann das Verfahren in Realzeit durchgeführt werden oder lediglich einzelne Tropfen können stroboskopartig mit den Momentaufnahmen in beispielsweise einem Framegrabber in den Auswertemitteln PC abgebildet werden, so daß beispielsweise der Abrißpunkt nur bei jedem zehnten Tropfenvorgang abgelichtet wird. Für die Auswahl dieser Auflösung spielen die Kosten und die gewünschte Auflösung bei der Anwendung des Verfahrens und der Anordnung eine Rolle, denn mit steigender Auflösung wird der Rechenaufwand größer und damit steigen auch die Kosten für die Auswertemittel.

Fig. 2 gibt ein Beispiel eines Bildschirmausschnittes, des Bildschirms BS aus Fig. 1 an. Bei dem Bildschirm handelt es sich beispielsweise um einen Rasterbildschirm der in Zeilen Z und Spalten SP aufgeteilt ist. Der Flüssigkeitsstrahl tritt beispielsweise hier von rechts entlang einer Symmetrieachse SYM in positive Spaltenrichtung SP in den Bildschirm BS1 ein. Der Abrißpunkt AP ist hier mittels einer Linie L10 markiert. Auch hier ist wieder der Tropfen TR1 wie in Fig. 1 dargestellt. Deutlich sind auf dem Bildschirmausschnitt BS1 Positionsgrenzwerte für den Abrißpunkt, L15 und L5 zu erkennen. Vorzugsweise werden diese Positionsgrenzwerte so gewählt, daß sie einen Abstand proportional zum Tropfenabstand vom Abrißpunkt AP aufweisen. Da es sich bei einem Ablösevorgang im wesentlichen um einen strahlförmigen Prozeß entlang der Symmetrieachse SYM handelt, bietet es sich beim beschriebenen Verfahren vorzugsweise an, lediglich Bildinhalte entlang dieses Strahls zu untersuchen. Hierzu ist beispielsweise um die Symmetrieachse herum ein Bereich der Breite BR gewählt. Dieser Bereich ist hier in positiver Spaltenrichtung als weißes Band zu erkennen.

Vorzugsweise wird beim beschriebenen Verfahren zur Detektion des Abrißpunkts mittels Bildanalyse wie folgt vorgegangen:

Zur Auffindung der Position der Symmetrielinie wird je nach Verlauf des Flüssigkeitsstrahls über das Bild entweder zeilenweise oder spaltenweise je Spalte oder je Zeile die Position der größten Schwärzung oder bei einem Inversbild der größten Weißfärbung gesucht und damit die Symmetrieeigenschaften des Flüssigkeitsstrahles ausgenutzt, da bekannt ist, daß ein Tropfen im Vergleich zum gesamten Bildschirminhalt eine kleine Ausdehnung besitzt und daß der Strahl entlang einer Symmetrieachse verläuft. Durch die Analyse der einzelnen Zeilen- bzw. Spalteninhalte erhält man eine Folge von Pixelkoordinaten, welche eine erhöhte Schwärzung oder eine erhöhte Weißfärbung aufweisen. Bei mehreren Pixelwerten entlang einer Zeile, bzw. Spalte kann das Minimum bzw. der signifikanteste Pixelwert durch Mittelwertbildung der einzelnen Koordinatenwerte der Pixel gefunden werden. Auf diese Weise werden entlang der Symmetrieachse verschiedene Punkte gefunden, welche den Verlauf des Flüssigkeitsstrahls angeben und insbesondere den Verlauf der Symmetrieachse SYM angeben. Zur weiteren Durchführung des Verfahrens können vorzugsweise entlang der Symmetrieachse die

Farbwerte der einzelnen Bildschirmpixel diskretisiert werden. Um den Analyseaufwand bei der Durchführung des Verfahrens zu erleichtern, werden den einzelnen Pixeln vorzugsweise lediglich zwei Farben, beispielsweise schwarz und weiß zugewiesen. Zur Diskretisierung dieser beiden Farbwerte, d. h. zur Findung einer Schranke, welche weiß von schwarz unterscheidet, werden beispielsweise entlang der Symmetrieachse alle Farbwerte aufintegriert und durch die Anzahl der Zeilen bzw. Spalten dividiert, so daß man genau einen Mittelwert für die gesamten Farbwerte erhält. Dieser Mittelwert dient dann infolge beispielsweise als Schranke zur Unterscheidung zwischen schwarz und weiß. Dabei erhalten alle Farbwerte, die unterhalb des Mittelwerts liegen den Wert schwarz und alle die oberhalb des Mittelwerts liegen beispielsweise den Wert weiß zugewiesen. Dieselbe Vorgehensweise läßt sich zur weiteren Vereinfachung der Bildinformation auch in der jeweils anderen also bei Zeilen/Spaltenrichtung und bei Spalten-/Zeilenrichtung durchführen. Nachdem nun der Tropfenstrahl auf diese Art und Weise aufbereitet wurde, kann mit dem Verfahren der Abrißpunkt AP gesucht werden. Hierzu wird vorausgesetzt, daß die Eintrittsrichtung des Flüssigkeitsstrahls in das Bild bekannt ist. Ausgehend von diesem Bildrand wird dann mit dem Verfahren entlang der Symmetrieachse die Pixelkoordinaten gesucht, an der der Farbwert wechselt. Diese Pixelkoordinaten repräsentieren genau den Ort des Abrißpunkts AP. Ausgehend von diesem aktuellen Pixelwert werden beispielsweise die Positionsgrenzwerte L 15 und L5 für den Abrißpunkt vorzugsweise im Abstand proportional zum Tropfenabstand vom Abrißpunkt definiert. Mit diesen Positionsgrenzwerten sind bestimmte Pixelkoordinaten verbunden. Das Verfahren kann nun zyklisch durchgeführt werden und es wird immer durch die beschriebene Vorgehensweise der Abrißpunkt gefunden. Falls der Abrißpunkt AP einen der Positionsgrenzwerte L15 oder L5 erreicht, das bedeutet, daß der Koordinatenwert des Abrißpunkts AP entweder L5 oder L15 annimmt, dann können beispielsweise geeignete Maßnahmen eingeleitet werden um die Position des Abrißpunkts AP zu korrigieren. Mit einer solchen Maßnahme kann beispielsweise der Vorgang sofort unterbrochen werden und durch einen Alarm ein menschlicher Bediener gerufen werden, oder es können geeignete Automaten aktiviert werden um den Abrißpunkt in die richtige Position zurückzuführen.

Fig. 3 zeigt ebenfalls den Bildschirmausschnitt BS1, welcher in Fig. 2 dargestellt wurde. In Fig. 3 ist ein Überwachungsfenster UF dargestellt, welches nach Auffindung des Abrißpunkts AP, wie dasein Fig. 2 beschrieben wurde, um den Abrißpunkt AP herum definiert werden kann. Wie erkannt werden kann, nimmt das Überwachungsfenster UF als Fläche einen wesentlich kleineren Teil als der gesamte Bildschirm ein, beispielsweise 5% des Bildschirmminhalt, was bedeutet, daß die Analyse nach dem beschriebenen Verfahren wesentlich schneller und in einem kürzeren Zeitraum durchgeführt werden kann, ohne das dabei Informationen verloren gehen. Es wird also davon ausgegangen, daß das Verfahren beispielsweise lediglich innerhalb des Überwachungsfensters UF durchgeführt wird. Es kann weiterhin vorgesehen sein, Schranken R1 und R2 vorzusehen, welche den unteren und den oberen Bildschirmrand repräsentieren, um damit eine Drift der Symmetrieachse SYM zu gestatten und lediglich bei Überschreiten dieser Schrauben R1 und R2 durch die Symmetrieachse SYM geeignete Maßnahmen einzuleiten,

um diese wieder zu zentrieren.

Fig. 4 gibt ein Beispiel eines Ablaufdiagrammes für ein zyklisch durchgeführtes Verfahren an. Im Schritt 100 des Verfahrens wird beispielsweise der Meßzyklus gestartet. Im Schritt 200 wird beispielsweise die Summe  $S(x, y)$  der Pixelfarbwerte der Spalten bzw. Zeilen im Bild berechnet. In einem Schritt 300 wird beispielsweise der Mittelwert der gefundenen Farbwerte gebildet, um die einzelnen Pixelfarbwerte in zwei Farben diskriminieren zu können. Auf diese Weise wird ein Farbverlauf quer über den Bildschirm in horizontaler oder waagrechtlicher Richtung erhalten. In einem Schritt 400 wird dieser Farbverlauf differenziert und damit die Stelle des Minimums bzw. Maximums gefunden. Dieser Maximal- oder Minimaldurchgang repräsentiert die Position der Symmetrieachse SYM. Anschließend wird beispielsweise in einem Schritt 500 der proportionale Tropfenabstand vom Abrißpunkt bestimmt. Dieser entspricht der in Fig. 2 und Fig. 3 dargestellten Breite BR. Diese Kanalbreite ergibt sich aus dem Farbverlauf dadurch, daß die Differenz zwischen dem Maximum bzw. Minimum und dem Nulldurchgang der Funktion gebildet wird. Dieser Abstand stellt ein sinnvolles Maß zur Beschränkung des Beobachtungsraums bei der Bildanalyse dar. Weiterhin gibt sie ein gutes Maß an, für die Bestimmung der Positionsgrenzwerte für den Abrißpunkt. Dieses Abstandsmaß wird beispielsweise zur Festlegung der Positionsgrenzwerte L5 und L15 verwendet. Und zwar werden diese Schranken so gewählt, daß sie einen Abstand vom Abrißpunkt proportional zum Tropfenabstand haben.

In einem Schritt 600 wird beispielsweise der mittlere Grauwert auf der Symmetrieachse gefunden, indem die einzelnen Pixelfarbwerte aufaddiert werden und durch die Anzahl der Spalten bzw. Zeilen dividiert wird. In einem weiteren Schritt 700 findet die Binarisierung des Bildausschnittes statt. Als Schwellenwert für die Binarisierung dient der mittlere Grauwert. In einem Schritt 800 wird die Berechnung der Summe der Farbwerte im binarisierten Bildausschnitt durchgeführt. Hierzu wird durch das Verfahren die Summenbildung von dem Bildrand aus durchgeführt, an dem der kontinuierliche Flüssigkeitsstrahl, d. h. die Flüssigkeitssäule in das Bild eintritt. Der Abrißpunkt wird gefunden, wenn eine Spalte oder eine Zeile auftritt, die zur Summe nichts mehr beiträgt. Vorzugsweise kann auch die spalten- bzw. zeilenweise Änderung der Summe beobachtet werden, d. h. die Summenfunktion kann differenziert werden und bei Auftreten eines ersten Minimums ist der Ort des Abrißpunktes gefunden. In einem Schritt 1000 des Verfahrens wird dann überprüft, ob die Positionsgrenzwerte L15 oder L5 durch die Position des Abrißpunktes erreicht wurden. Falls ja wird in einem Schritt 900 eine geeignete Maßnahme eingeleitet. Falls nein wird in einem Schritt 1100 ein neuer Meßzyklus angestoßen.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur Überwachung eines abreißenden Flüssigkeitsstrahls, mit den Schritten

- Erfassen des Bildes des Abrißpunktes, an welchem sich Einzeltropfen von dem Flüssigkeitsstrahl ablösen,
- Ermitteln der Position des Abrißpunktes auf dem Bild mittels Bildanalyse,
- Vergleichen der ermittelten Position des Abrißpunktes mit mindestens einem vorgegebenen Grenzwert für die Position des Abriß-

punktes, und

- Einleiten einer Maßnahme in Abhängigkeit davon, ob der vorgegebene Grenzwert über- oder unterschritten wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß

- zur Bildanalyse die Tropfrichtung ermittelt wird, indem die Pixelinformation des Bildes zeilen- oder spaltenweise auf Orte veränderter Farb- und/oder Intensitätsinformation hin untersucht wird und diese Orte nach einer Mittelwertbildung durch eine Gerade verbunden werden, welche so die Symmetrielinie des Tropfenstrahls bildet, und daß

- entlang der Symmetrielinie, bei der bekannten Eintrittsseite der Flüssigkeitssäule in das Bild beginnend und zur anderen Bildseite fortschreitend, ein Ort signifikanter Farbänderung gesucht wird und dieser als die Position der Abrißkante auf dem Bild ermittelt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß um die Abrißkante herum ein Suchfenster definiert wird, welches wesentlich kleiner ist, als die Bildfläche.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß in Zeilen- und/oder Spaltenrichtung des Bildes ein Extremwert der Pixelfarbwerte bestimmt wird und den Farbwerten der Pixel lediglich zwei diskrete Werte zugewiesen werden, zu deren Unterscheidung bei der Zuweisung der Extremwert verwendet wird, so daß alle Werte die darüber, oder darunter liegen den einen Farbwerte erhalten und alle anderen Werte in der jeweiligen Zeile oder Spalte den anderen Farbwert erhalten.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß als Maßnahme der Flüssigkeitsstrahl unterbrochen wird.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß als Maßnahme ein Sortierröhrchen aus einem Tröpfchenstrahl entfernt wird.

7. Anordnung zur Überwachung eines abreißenden Flüssigkeitsstrahls zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 6, mit

- Detektionsmitteln zur Detektion der variablen Position eines Abrißpunktes, an welchem sich Einzeltropfen von einer Flüssigkeitssäule ablösen,

- Auswertemitteln zur Auswertung der detektierten Position des Abrißpunktes in Abhängigkeit mindestens eines vorgegebenen Positionsgrenzwertes, indem die detektierte Position mit dem mindestens einen vorgegebenen Positionsgrenzwert verglichen wird, und mit

- Aktionsmitteln, welche bei Über- oder Unterschreiten des mindestens einen vorgegebenen Positionsgrenzwertes in Aktion treten.

8. Anordnung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektionsmittel in Form einer Überwachungskamera vorgesehen sind, welche mit geeigneten Bildspeichermitteln zum Festhalten mindestens einer Momentaufnahme des Abrißpunktes zusammenwirken.

9. Anordnung nach Anspruch 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Auswertemittel in Form eines Rechners vorgesehen sind.

10. Anordnung nach Anspruch 9, dadurch gekenn-

zeichnet, daß der Rechner eine Graphikkarte mit Frame-Grabber aufweist und die Auswertemittel so ausgestaltet sind, daß eine graphische Auswertung des Positionsgrenzwertes anhand einer als Momentbild gespeicherten Pixelinformation durchgeführt wird, wobei der Positionsgrenzwert in Form von Pixelkoordinatenwerten vorgegeben ist. 5

11. Anordnung nach einem der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Aktionsmittel in Form einer Alarmeinrichtung vorgesehen sind. 10

12. Anordnung nach einem der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß als Aktionsmittel eine Einrichtung zur automatischen Unterbrechung des Flüssigkeitsstrahls vorgesehen ist. 15

13. Anordnung nach einem der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß als Aktionsmittel ein Aktor vorgesehen ist, welcher den Abrißpunkt nachreguliert.

14. Verwendung der Anordnung nach einem der Ansprüche 7 bis 13, zur Überwachung des Abrißpunkts des Flüssigkeitsstrahls bei einem Zellsorter. 20

---

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

---

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -



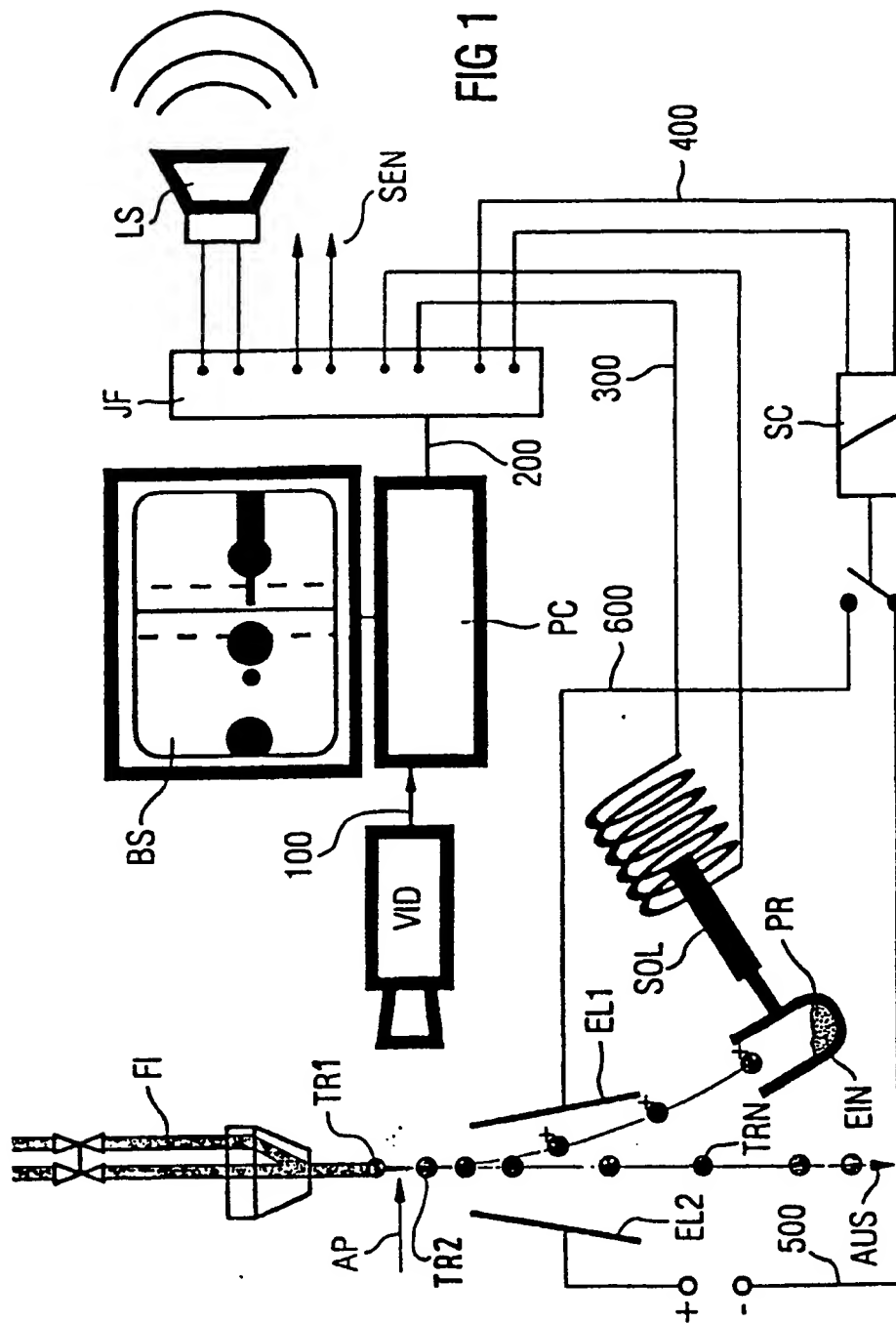


FIG 2

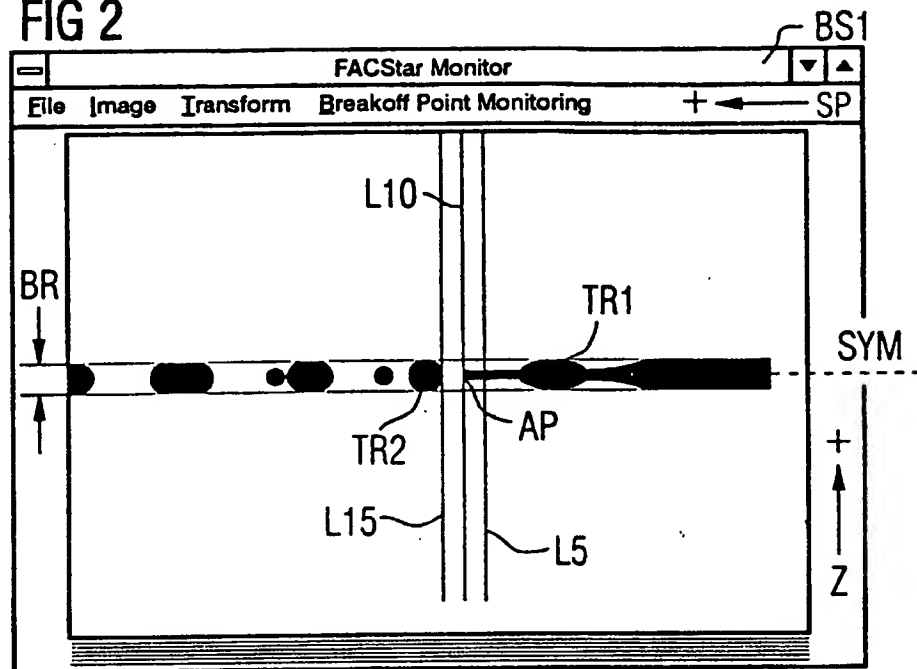
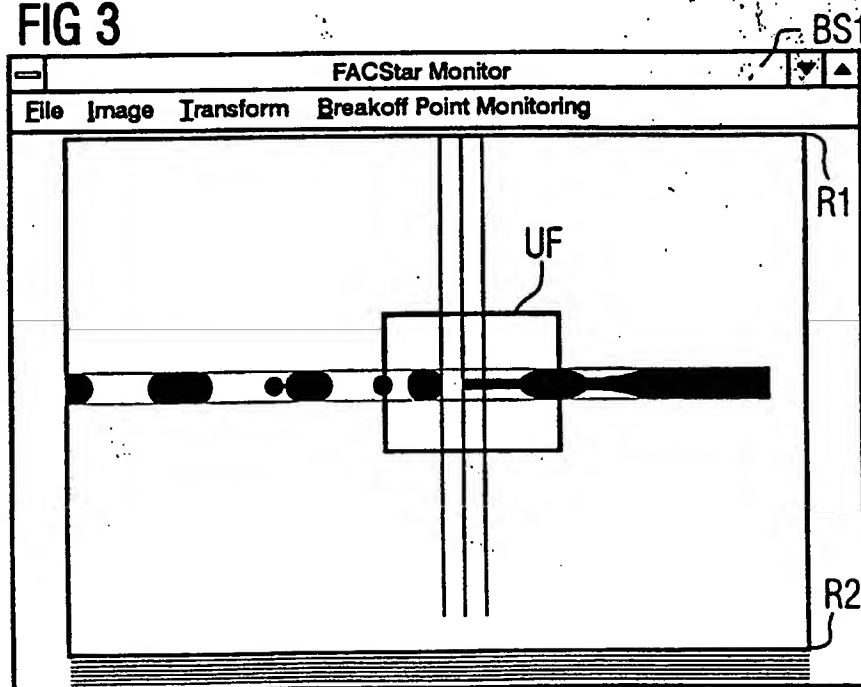


FIG 3



Figur 4

